



Initial osteoblast adhesion and subsequent differentiation on zirconia surfaces are regulated by integrins and heparin-sensitive molecule

著者	羅 鋒
号	49
学位授与機関	Tohoku University
学位授与番号	歯博第833号
URL	http://hdl.handle.net/10097/00126837

氏 名 (本籍) : 羅 鋒 (中国)

学 位 の 種 類 : 博 士 (歯 学) 学 位 記 番 号 : 歯 博 第 8 3 3 号

学位授与年月日 : 2018 年 9 月 25 日 学位授与の要件 : 学位規則第4条第1項該当

研究科・専攻 : 東北大学大学院歯学研究科 (博士課程) 歯科学専攻

学位論文題目 : Initial osteoblast adhesion and subsequent differentiation on zirconia surfaces are regulated by integrins and heparin-sensitive molecule (ジルコニア表面における骨芽細胞の初期の接着と分化はインテグリンとヘパリン感受性分子による制御される)

論文審査委員 : (主査) 教授 江 草 宏
教授 佐々木 啓 一 教授 笹 野 泰 之

論文内容要旨

1.BACKGROUND

It is well-known that zirconia materials have good biocompatibility; however, little is known regarding the mechanism by which cells attach to these materials.

2.PURPOSE

In this study, we examined the surface characteristics of ceria-stabilized zirconia/alumina nanocomposite (NANOZR), yttria-stabilized zirconia(3Y-TZP) and commercially pure titanium (CpTi), and we evaluated the initial response of osteoblast-like cells to them with different inhibitors to elucidate the mechanism of cell attachment.

3.MATERIALS AND METHODS

The disks 15 mm in diameter and 1.5 mm thick of NANOZR, 3Y-TZP and CpTi with the same polishing treatment was used in this study. Surface morphology, roughness and wettability was observed using SEM, profilometer and contact angle meter. MC3T3-E1 osteoblast-like cells were utilized for cell culture studies. The SEM, laser scanning confocal fluorescence microscopy and activity cell counting kit assay was used to evaluate the initial response of osteoblast-like cells to them with different inhibitors (EDTA, RGD peptides, MAB1998, IgG and Heparin).

4.RESULTS

The three materials show similar surface wettability but different Surface roughness. Osteoblasts could adhere to the surface of all three materials, and spindle shapes were clearer in serum-containing media compared to PBS and serum-free culture media, suggesting that serum-contained proteins are helpful for the initial cell adhesion and spreading. Cell adhesion and

proliferation were disrupted in the presence of EDTA. RGD-peptide interfered proliferation cell protrusion but stress fiber formation. Monoclonal antibody against non-RGD type integrin $\alpha 2 \beta 1$ enhanced proliferation in 3Y-TZP, CpTi and culture dish but not in NANOZR. Cell proliferation on NANOZR was specifically inhibited in the presence of heparin. Furthermore, under heparin administration, spindle shape formation was maintained but actin cytoskeleton was disrupted, resulted in loose cellular spreading.

5.CONCLUSION

These results suggest that RGD type integrins and heparin-sensitive protein coordinately regulate cell morphology and proliferation on NANOZR, through the regulation of cell polarity and stress fiber formation, respectively.

審査結果要旨

安定化ジルコニア (ZrO_2) は、強度および靱性などの機械的特性に優れている。歯科領域では、イットリア安定型の 3Y-TZP、およびセリア安定型の Ce-TZP とアルミナ (Al_2O_3) の複合材である NANOZR の 2 種が歯冠修復材料として広く応用されている。これらのうち、特に NANOZR は高い生体親和性を有することから、生体内での使用、特に歯科用インプラント材料への応用が期待されており、NANOZR の生体親和性の向上を目指した表面処理などの研究が行われている。しかしながら、NANOZR においては、生体材料に重要な要件である、細胞の接着・増殖機構が未解明のままである。

本論文は、歯科用インプラント材料として有望な商用ジルコニアである NANOZR 表面における細胞接着・増殖機構について検討したものである。対照群として 3Y-TZP および純チタン (CpTi) を用いた。ジルコニア表面における骨芽細胞の初期接着には、材料の表面構造および性質が大きく関わっているとの仮説を立て、NANOZR、3Y-TZP および CpTi の表面構造・性質を比較しつつ、タンパク質結合に関与する添加物 (EDTA, RGD peptides, MAB1998, IgG and Heparin) がマウス由来骨芽細胞様細胞 (MC3T3-E1) の材料表面への初期接着・増殖に及ぼす影響について検討した。

三種類の材料表面の濡れは類似した結果を示したが、表面粗さは異なっていた。MC3T3-E1 は無血清培地に対し血清含有培地で明らかな紡錘形 (スピンドルシェイプ) を示した。また、モノクローナル抗体による非 RGD 型インテグリン $\alpha 2 \beta 1$ の阻害では、3Y-TZP および CpTi において細胞増殖を促進したが、この効果は、NANOZR では認められなかった。一方、NANOZR 上の細胞増殖は、糖タンパク阻害作用を持つヘパリンの存在下で特異的に阻害された。さらに、ヘパリン投与下では、細胞のスピンドルシェイプは維持されたが、アクチン細胞骨格の破壊を認めた。

本研究は、NANOZR 表面における骨芽細胞接着および増殖は、RGD 型インテグリンおよびヘパリン感受性タンパク質により、それぞれ細胞極性およびストレスファイバー形成の調節を介して制御されていることを明らかにした。本研究は、NANOZR 界面における細胞接着・増殖の分子機構の一端を解明し、歯科用インプラント材料としての NANOZR の有用性を示しており、歯科生体材料学の研究領域に学術的貢献をし得ることから博士 (歯学) の学位論文として相応しいと判断する。